



3M™ Petrifilm™

Interpretationshilfe

3M™ Petrifilm™ Coliforme Zählplatte (CC)

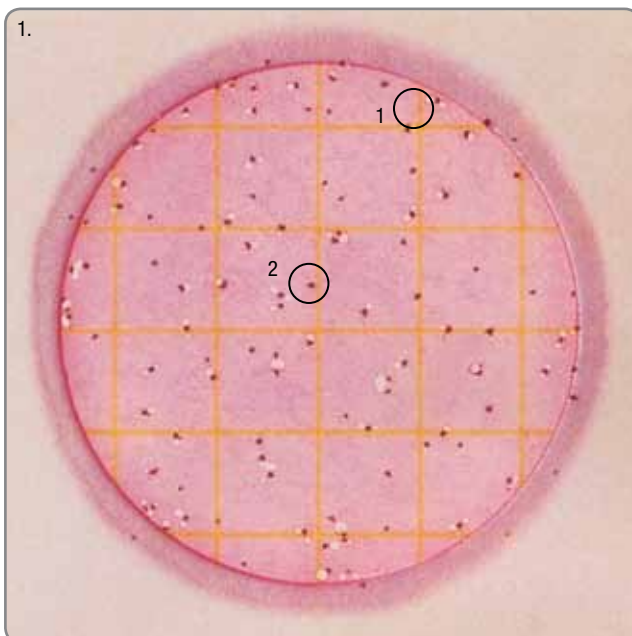
Dieser Leitfaden soll sie mit der Auswertung von Ergebnissen auf 3M™ Petrifilm™ Coliforme (CC) vertraut machen.

Für zusätzliche Informationen wenden sie sich bitte an den, für ihre Region zuständigen, Ansprechpartner für 3M Mikrobiologie Produkte.

Petrifilm CC – Platten enthalten modifizierte VRB - Nährmedien, ein kaltwasserlösliches Gel und einen Tetrazolium Indikator, um die Auszählung zu erleichtern. Im Deckfilm wird das, durch die Lactose fermentierenden Coliformen, produzierte Gas eingeschlossen.

Petrifilm CC – Platten können sowohl zur Auswertung der Gesamtcoliformen als auch für die Auswertung der thermotoleranten (Fäkal) Coliformen verwendet werden.

- ISO definiert Coliforme durch ihrer Fähigkeit in einem methodenspezifischen, selektiven Medium zu wachsen. **ISO - Methode 4832**, Zählung von Coliformen durch Koloniezählung, definiert Coliforme durch ihre Größe und die Säureproduktion auf VRB mit Lactose (VRBL) Agar. Auf Petrifilm CC - Platten werden diese säureproduzierenden Coliformen durch rote Kolonien, mit oder ohne Gas angezeigt. **ISO - Methode 4831**, Zählung von Coliformen mit einer Methode der höchstwahrscheinlichen Anzahl (MPN), definiert Coliforme durch ihre Fähigkeit der Gasproduktion aus Lactose in einer selektiven Nährlösung. Auf Petrifilm CC - Platten werden diese Coliformen durch rote Kolonien, mit Gas angezeigt.
- **AOAC International** und das **U.S. FDA Bacteriological Analytical Manual (BAM)** definieren Coliforme als gramnegative Stäbchen die durch metabolische Lactosefermentation Säure und Gas produzieren. Coliforme Kolonien, die auf den Petrifilm CC - Platten wachsen, produzieren Säure durch die sich, aufgrund des pH - Indikators, die Gelfarbe verdunkelt. Rund um die Coliformen Kolonien eingeschlossenes Gas zeigt bestätigt Coliforme Keime an.

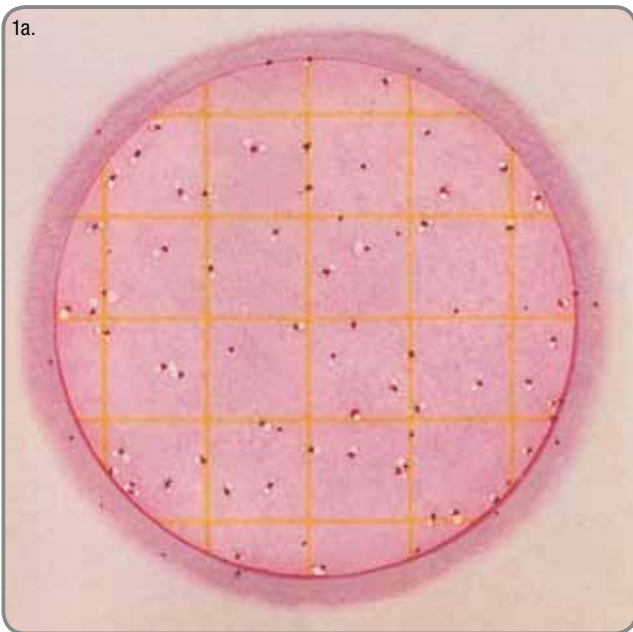


Abhängig von der gewählten Methode ändern sich Zeit und Temperatur der Inkubation sowie die jeweilige Auswertung der Petrifilm CC – Platten.

AOAC®, AFNOR und NMKL haben den Gebrauch von Petrifilm CC – Platten unter unterschiedlichen Konditionen validiert. Siehe Seite 2 und 3 dieser Interpretationshilfe.

Gasproduzierende Coliforme: 75
Nicht – gasproduzierende Coliforme: 24
Gesamtzählung: 99

Interpretation von 3M™ Petrifilm™ CC - Platten. In Übereinstimmung mit AOAC, NMKL und AFNOR :



65 Coliforme, Offizielle Methode AOAC.

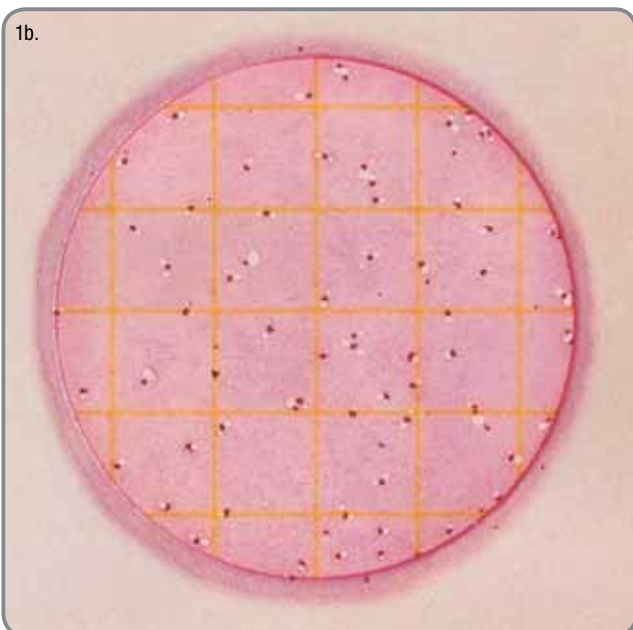
Auswertung nach AOAC International:

Inkubation:

- Coliforme in Milch, Rohmilch und Milchprodukten (Official Methods 986.33 und 989.10) :
Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 32°C +/- 1°C.
- Coliforme, alle Lebensmittel (außer den obengenannten) (Official Method 991.14):
Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 35°C +/- 1°C.

Auswertung:

- Coliforme: Alle roten Kolonien mit Gas.



67 Coliforme, NMKL Methode.

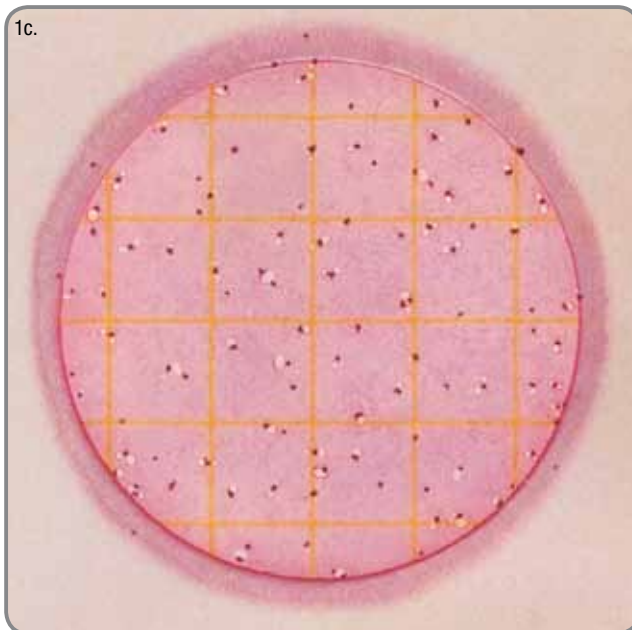
Auswertung nach NMKL (Methode 147:1993):

Inkubation:

24 h +/- 2 h bei 37° +/- 1°C.

Auswertung:

- Coliforme: Rote Kolonien mit Gas.



97 Coliforme, AFNOR zugelassene Methode verglichen mit ISO – Method 4832. 72 gasproduzierende Coliforme, AFNOR zugelassene Methode verglichen mit ISO – Method 4831.

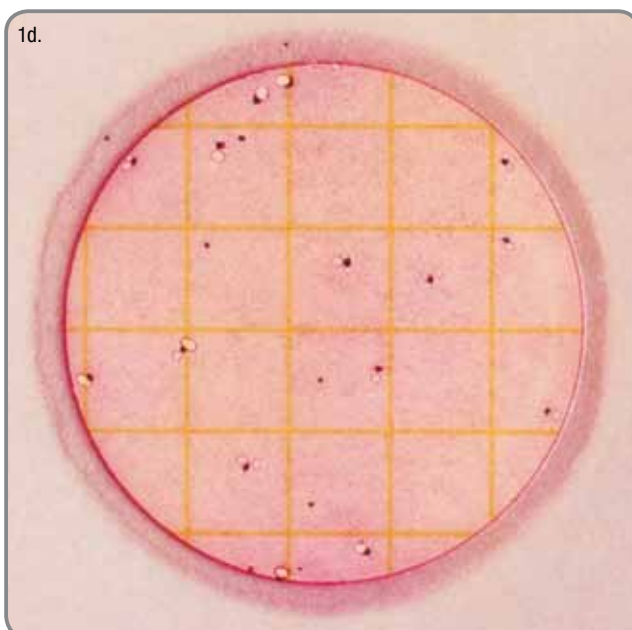
Auswertung nach AFNOR Zulassung für Gesamtcoliforme (3M 01/2 - 09/89A und 3M 01/2 - 09/89B):

Inkubation:

24 h +/- 2 h bei 30°C +/- 1°C

Auswertung:

- Im Vergleich zu ISO Methode 4832 (3M 01/2-09/89A): Alle roten Kolonien mit und ohne Gas.
- Im Vergleich zu ISO Methode 4831 (3M 01/2-09/89B): Nur roten Kolonien mit Gas.



21 Coliforme, AFNOR zugelassene Methode verglichen mit NV Methode V08 – 017.

Auswertung nach AFNOR Zulassung für thermotolerante Coliforme (3M 01/2 - 09/89C):

Inkubation:

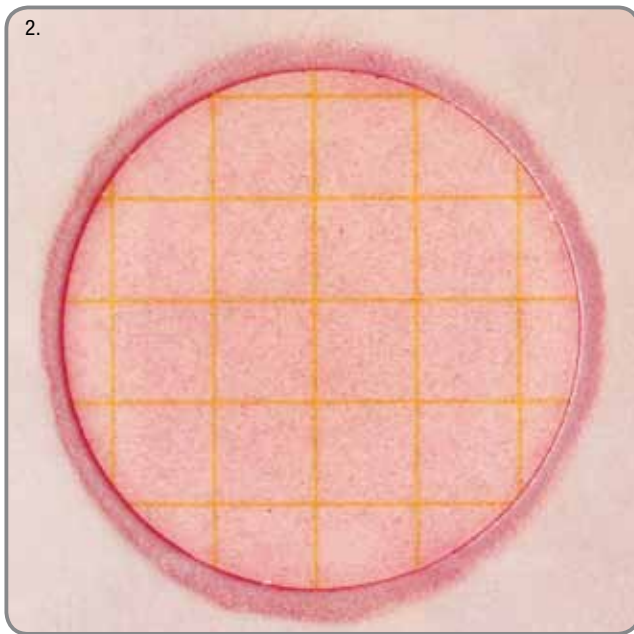
24 h +/- 2 h bei 44°C +/- 1°C

Auswertung:

- Im Vergleich zu NV Methode V08 – 017: Alle roten Kolonien mit und ohne Gas.

3M™ Petrifilm™ Coliforme

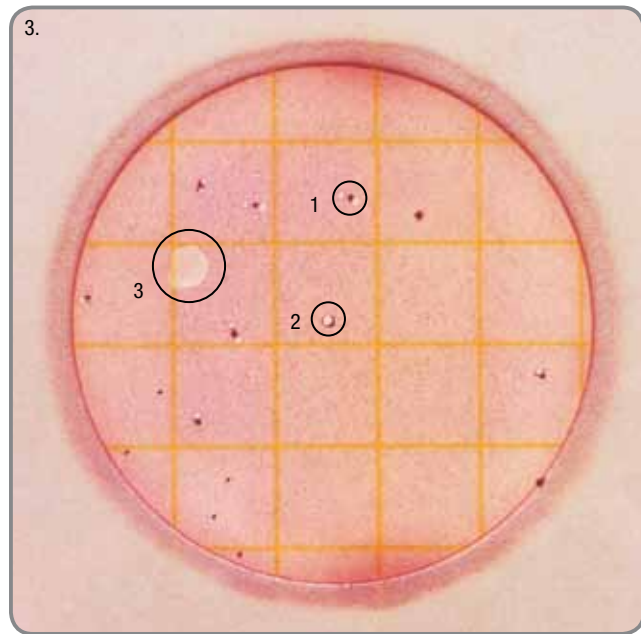
Beachten sie den Wechsel der Gelfarbe in den Abbildungen 2 bis 6. Mit dem Anstieg der Coliformen Kolonien verdunkelt sich die Gelfarbe.



Kein Wachstum

Koloniezählung: 0

Hintergrundblasen sind charakteristisch für das Gel, nicht das Ergebnis von Coliformen Wachstum. Hintergrundblasen sind sehr klein (pin point) und stehen nicht mit Kolonien in Verbindung.

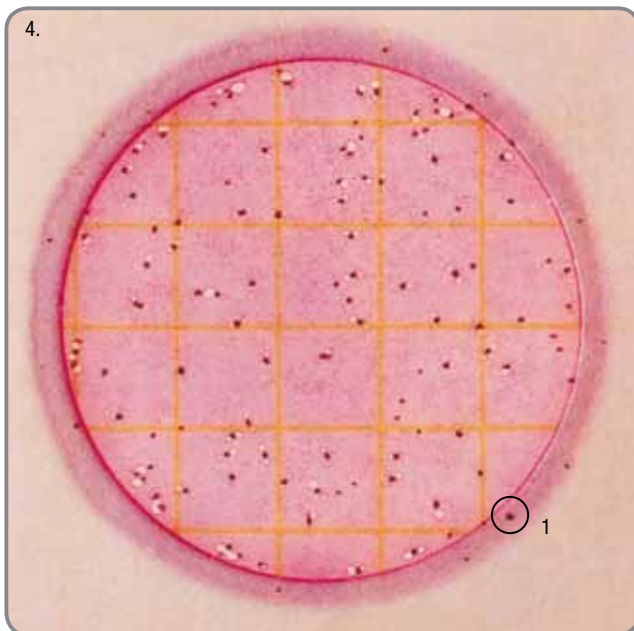


Gasproduzierende Coliforme: 8

Nicht – gasproduzierende Coliforme: 7

Gesamtzählung: 15

Abbildung 3 zeigt wie unterschiedlich Gasblasen geformt sein können. Manchmal können Gasblasen die Kolonie auch „zerreißen“. Die Kolonie umrandet dann die Blase. Siehe Kreis 1 und 2. Die Größe dieser Gasblasen liegt bei ca. einem Koloniedurchmesser. Künstliche Gasblasen können durch unsachgemäßes Beimpfen der Petrifilm CC - Platte oder durch, in der Probe eingeschlossene, Luft entstehen. Sie sind unregelmäßig geformt und stehen nicht mit Kolonien in Verbindung. Siehe Kreis 3.

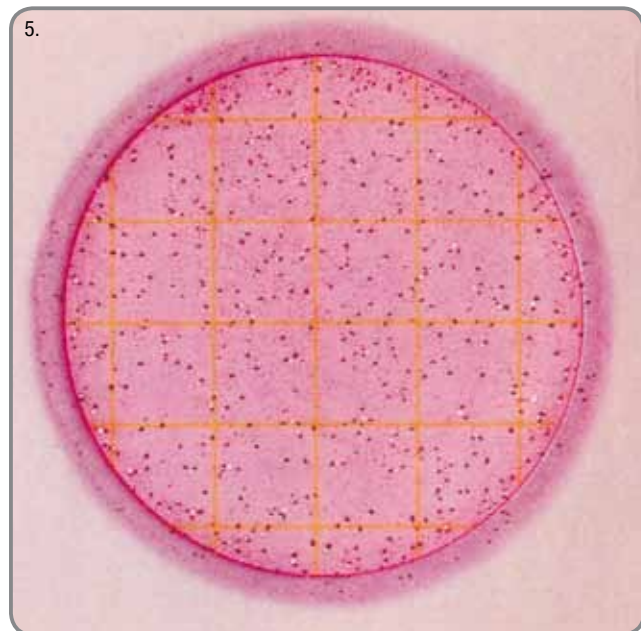


Gasproduzierende Kolonien: 83

Nicht – gasproduzierende Kolonien: 29

Gesamtzählung: 112

Der auszählbare Bereich der Petrifilm CC - Platten liegt zwischen 15 und 150 (Gesamtkoloniezahl). Kolonien, die trotz des fehlenden selektiven Einflusses des Nährmediums auf dem Schaumdamme wachsen, werden nicht ausgezählt. Siehe Kreis 1.



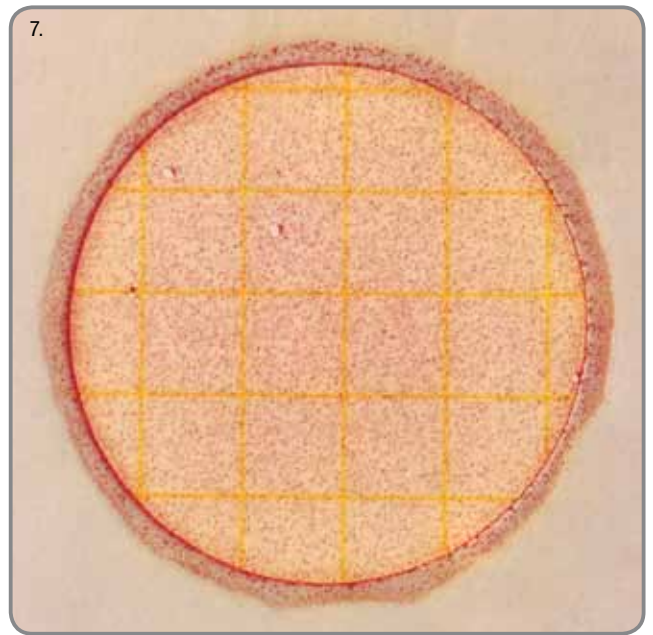
Geschätzte Gesamtkoloniezahl: 310

Der kreisförmige Wachstumsbereich der Petrifilm CC - Platte ist ca. 20 cm² groß. Bei Platten die mehr als 150 Kolonien enthalten kann, durch Auswerten eines oder mehrerer repräsentativer Quadrate und die Ermittlung der durchschnittlichen Koloniezahl pro Quadrat, eine geschätzte Zählung durchgeführt werden. Multiplizieren sie die durchschnittliche Koloniezahl mit 20 um die geschätzte Zählung der Petrifilm CC - Platte zu erhalten.

Verdünnen sie die Probe weiter, um ein genaueres Ergebnis zu erhalten.

Nicht auswertbare bzw. überwachsene Platten

Verdünnen sie die Probe weiter, um ein genaueres Ergebnis zu erhalten.



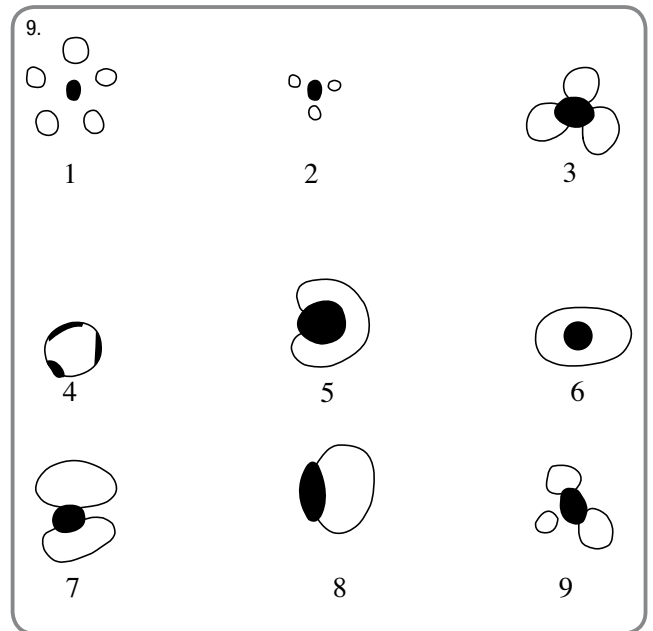
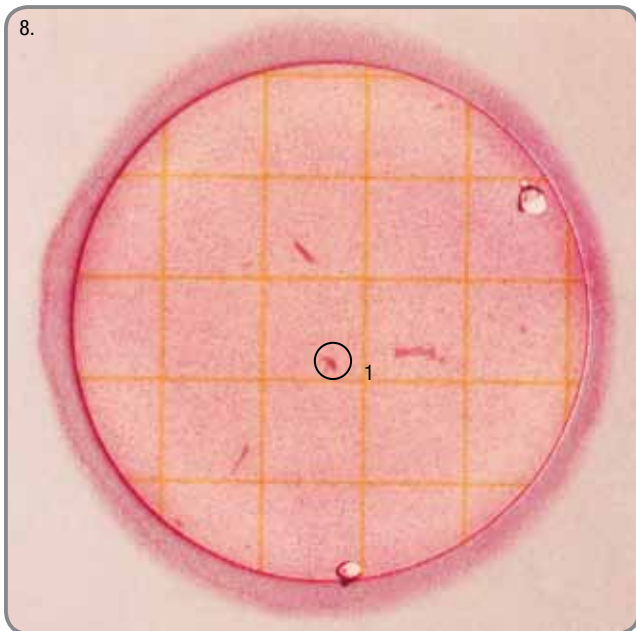
Nicht auswertbare Platten

Petrefilm CC - Platten mit nicht auswertbarem Wachstum haben eines oder mehrere der folgenden Merkmale: sehr viele kleine Kolonien, viele Gasblasen und / oder ein Verdunkeln der Gelfarbe.

Gasproduzierende Kolonien: 4

Eine hohe Anzahl anderer, nicht - coliformer Organismen (z. B. Pseudomonas) auf Petrefilm CC - Platten kann zu einer Gelbfärbung des Gels führen.

Gasblasen



Gasproduzierende Kolonien: 2

Probenpartikel sind ungleichmäßig geformt und stehen in keinem Kontakt mit Gasblasen. Sie sollten alle bei der Auszählung berücksichtigt werden. Siehe Kreis 1.

Die folgenden Beispiele zeigen weitere, mögliche Erscheinungsformen von, mit Kolonien in Verbindung stehenden, Gasblasen. Sie sollten alle bei der Auszählung berücksichtigt werden.

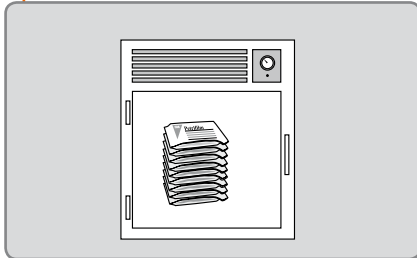
3M™ Petrifilm™ Coliforme

Für detaillierte Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen, Garantiebeschränkungen, Haftungsbeschränkungen, Lagerung, Entsorgung und weitere Gebrauchshinweise siehe Packungsbeilage.

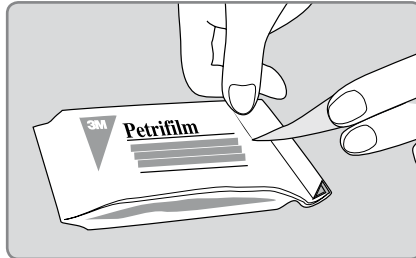


Gebrauchsanweisung

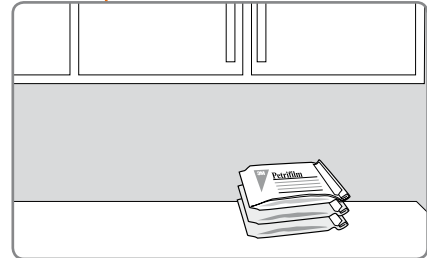
Lagerung



1 Ungeöffnete Packungen bei $\leq 8^{\circ}\text{C}$ lagern. Vor Ablauf des Verfallsdatums verbrauchen. In Bereichen mit hoher Luftfeuchtigkeit die Packungen vor dem Öffnen auf Raumtemperatur erwärmen lassen um Kondenswasserbildung zu vermeiden.

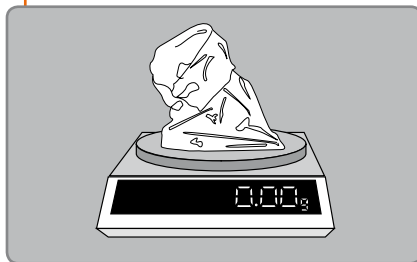


2 Geöffnetes Ende einer nicht verbrauchten Packung umfalten und mit Klebeband verschließen.

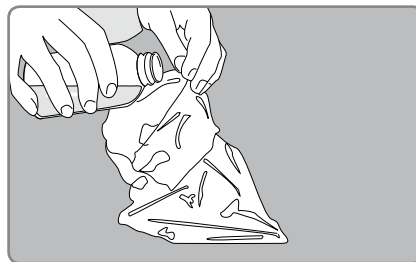


3 Wiederverschlossene Packungen bei $\leq 25^{\circ}\text{C}$ und $\leq 50\%$ relativer Luftfeuchtigkeit lagern. Geöffnete Packungen nicht gekühlt lagern und innerhalb eines Monats verbrauchen.

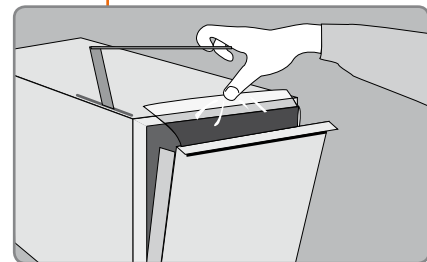
Vorbereitung



4 Probe in geeignetes, steriles Gefäß (z.B. Stomacher Beutel, Verdünnungsfläche, Whirl - Pak® Beutel oder andere geeignete Gefäße) einwiegen oder pipettieren.



5 Geeignete Menge einer geeigneten Verdünnungsflüssigkeit z. B. 0,1 % Peptonwasser, Peptonsalzlösung (ISO - Methode 6887), 0,85 - 0,90 % -ige Kochsalzlösung, destilliertes Wasser oder Butterfield Phosphat Puffer (IDF Phosphat Puffer - KH_2PO_4 bei 0.0425g/L - eingestellt auf einen pH - Wert von 7.2) hinzufügen.

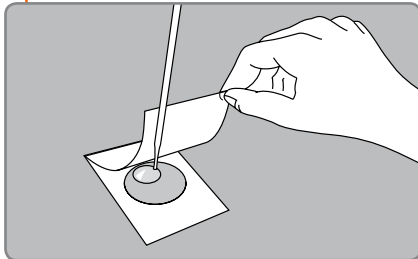


6 Vermischen oder homogenisieren der Probe nach anerkannten Methoden.

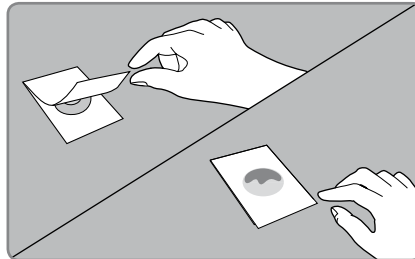
Keine Citrat-, Bisulfit- oder Thiosulfathaltige Puffer verwenden. pH - Wert der verdünnten Probe auf 6,6 bis 7,2 angleichen:

- für saure Produkte mit 1N NaOH,
- für alkalische Produkte mit 1N HCl.

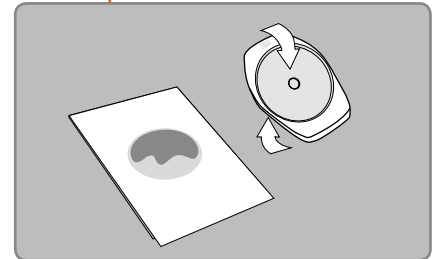
Beimpfung



7 Petrifilm auf ebene Oberfläche legen. Deckfilm anheben. Mit senkrecht gehaltener Pipette, 1 ml. der Probe in die Mitte der unteren Folie pipettieren.

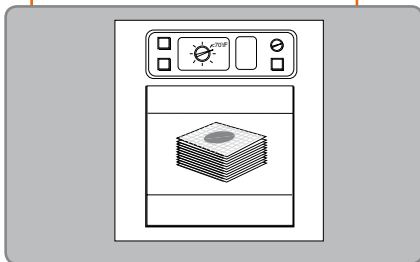


8 Deckfilm vorsichtig abrollen um Lufteinschlüssen zu vermeiden. Deckfilm nicht einfach fallenlassen.



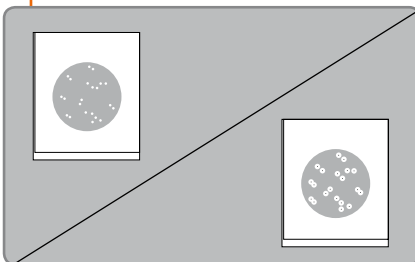
9 Probenverteiler mit glatter Seite nach unten auf die Probe unter dem Deckfilm legen. Durch leichten Druck auf den Probenverteiler die Probe auf dem kreisförmigen Wachstumsbereich verteilen. Probenverteiler nicht verschieben oder hin und her bewegen. Probenverteiler abheben. Platte zur Gelverfestigung mindestens 1 Minute liegenlassen.

Inkubation

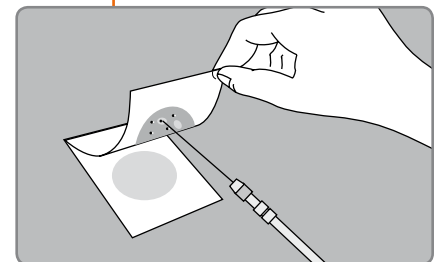


10 Maximal 20 Platten, mit der klaren Seite nach oben, übereinander inkubieren. Inkubationsdauer und -temperatur sind abhängig von der gewählten Methode.

Interpretation



11 Petrifilm Platten können auf handelsüblichen Koloniezählgeräten oder anderen Vergrößerungsquellen ausgezählt werden. Zum Auswerten der Ergebnisse Interpretationshilfe beachten.



12 Kolonien können zur weiteren Identifikation isoliert werden. Deckfilm anheben und die Kolonie vom Gel nehmen.

Allgemein gebräuchliche, zugelassene Methoden:

Gesamtcoliforme

- Offizielle Methode AOAC 986.33 und 989.10 (Milch, Rohmilch, andere Milchprodukte): Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 32°C +/- 1° C.
- Offizielle Methode AOAC 991.14 (alle Lebensmittel): Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 35°C +/- 1° C
- NMKL – Methode 147.1993: Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 37°C +/- 1° C
- validierte Methoden 3M 01/2-09/89A und B: Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 30°C +/- 1° C

Thermotolerante (Fäkal Coliforme)

- AFNOR validierte Methoden 3M 01/2-09/89C: Inkubieren für 24 h +/- 2 h bei 44°C +/- 1° C

Der Inkubator muß während der Bebrütungsdauer befeuchtet werden um den eventuell entstehenden Feuchtigkeitsverlust bei dieser erhöhten Temperatur zu minimieren.



3M Medica
Zweigniederlassung der
3M Deutschland GmbH
Hammfelddamm 11
41460 Neuss
Tel.: (02131) 14 3000
Fax: (02131) 14 3200
www.3m.com/de/mikrobiologie

3M Österreich GmbH
Brunner Feldstrasse 63
2380 Perchtoldsdorf
Tel.: +43-(0)1-86-686-464
Fax: +43-(0)1-86-686-330
e-mail: medizin-at@mmm.com

3M (Schweiz) AG
Eggstrasse 93
8803 Rüschlikon
Switzerland
Tel.: +41-44-724-90-90
Fax: +41-44-724-94-80

Please recycle. Printed in Germany.
© 3M 2012. All rights reserved.
1385-101-D
3M and Petrifilm are trademarks of the
3M company.

